

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461236

研究課題名(和文) 非糖尿病・肥満関連腎症の病態生理の解明 早期診断指標、および早期治療介入の確立

研究課題名(英文) Pathophysiology of non-diabetic/obesity induced renal injuries

研究代表者

徳山 博文 (Tokuyama, Hirobumi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：50276250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近位尿細管Rho/Rhoキナーゼ経路の活性化は、メタボリック腎症の病態生理の起源であり、また、肥満関連腎症早期から近位尿細管細胞の肥大、空胞化がみられ、mDiaはそれら組織学的変化が観察される前から誘導される。後期においては、mDiaの誘導に代わりRhoキナーゼが誘導されるとともに、Cell Cycle制御因子のp27が抑制され、尿細管におけるCell Cycleはhyperplasticとなり、hypoplasticなcell cycleを呈する糖尿病性腎症と逆になることを見出した。これまでの研究結果を元に、「メタボリック腎症先制治療戦略」を確立することが今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：Excess fat intake causes obesity-induced renal injury, which are mediated by an activated Rho/Rho-kinase pathway in proximal tubules and inflammatory process. It is surmised that hypertrophic process in proximal tubules during obesity formation affects Rho-kinase activation presumably through mechanical stress. mDia is induced in an early phase and subsequently the induction of Rho-kinase is observed in obesity. In parallel with that, p27 is suppressed, thereby leading to the hyperplastic state of cell cycle, which is contrary to the hypoplastic state in diabetes. This process subsequently induces inflammation and accelerates the histological changes of proximal tubules. The intervention of Rho/Rho-kinase may constitute a novel strategy blocking the progression process of obesity-induced renal damages from an early stage.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：rho-kinase mDia p27 proximal tubule cell cycle

1. 研究開始当初の背景

近年慢性腎臓病 (CKD) の発症進展に対する早期治療介入の重要性が指摘されている。基礎研究において、各種 CKD モデルに対するレニン・アンジオテンシン系の抑制、抗炎症・線維化抑制薬が有効だとされ、実臨床においても CKD の進行阻止手段として減塩、低蛋白食、降圧療法、血糖管理など様々な治療が試みられているが、糖尿病性腎症の進行・新規透析導入を抑制しきれていない。CKD に対する早期治療介入、およびそれを可能にする超早期診断指標 (Early Warning Indicator) の確立が求められ、CKD の治療戦略における全く新しいパラダイムが求められている。

2. 研究の目的

微量アルブミン尿を早期診断指標として糖尿病性腎症に対し治療介入されている現在、腎症進行を抑止できていない。申請者は、メタボリック腎症 (肥満関連腎症・糖尿病性腎症) の病態生理について研究してきた。糖尿病性腎症における尿細管系球体連関、肥満関連腎症においてすでに尿細管細胞肥大、空胞化など組織障害が始まり、微量アルブミン尿より早期に尿細管障害マーカーが上昇し、その病態生理に Rho/Rho キナーゼ経路が重要であることを明らかにしてきた。本研究は申請者の提唱する「尿細管系球体連関」「腎臓組織障害を鋭敏に反映した尿中マーカー動態」を応用し、メタボリック腎症全段階に渡って、腎臓組織採取を行わず病態・進行度の把握を可能にする技術を開発し、早期治療介入、および末期腎不全への進行阻止を実現するものである。

3. 研究の方法

肥満関連腎症早期、後期、糖尿病性腎症早期の各期をさらに細分化し、尿細管代謝異常、エピジェネティック制御など質的变化と腎臓組織学的形態学的変化を時系列に対比させ、メタボリック腎症各期の病態生理を詳細に明らかにする。そして、微量アルブミン尿

に代わる早期診断指標 (Early Warning Indicator) および腎臓組織所見を得ずともメタボリック腎症の進行度を鋭敏に反映した病態診断指標の確立を目指す。さらに、メタボリック腎症の病態生理の中心に位置する Rho/Rho エフェクター、PHD2/HIF 経路をターゲットとした超早期治療介入を行う。最終的に早期診断・早期治療介入を行い、腎臓組織所見を必要としない非侵襲的病態把握を可能にする「超早期診断技術」の開発、および超早期の「先制治療戦略」を確立し、臨床応用を目指す。

4. 研究成果

我々は、これまで低分子 G 蛋白である Rho/Rho キナーゼ経路が、肥満関連腎症、糖尿病性腎症の病態生理に重要であることを明らかにしてきた。今回新たに、近位尿細管特異的 dominant-negative RhoA TG マウスを作成し、低脂肪食、高脂肪食飼育による表現型を確認し、近位尿細管 Rho/Rho キナーゼ経路の活性化は、メタボリック腎症の病態生理の起源であり、早期治療介入の治療ターゲットとなりうると考えられた。また、肥満関連腎症の病態生理は肥満の早期、後期においても異なる。Rho エフェクターとして働く分子の内、アクチン細胞骨格形成に協調的に作用するのが Rho キナーゼと mDia である。肥満関連腎症早期から近位尿細管細胞の肥大、空胞化がみられ、mDia はそれら組織学的変化が観察される前から誘導される。後期においては、mDia の誘導に代わり Rho キナーゼが誘導されるとともに、Cell Cycle 制御因子の p27 が抑制され、尿細管における Cell Cycle は hyperplastic となり、hypoplastic な cell cycle を呈する糖尿病性腎症と逆になることを見出した。さらに、肥満関連腎症では尿細管が肥大し、尿細管周囲毛細血管 (peri tubular capillary : PTC) は尿細管に対し密度が低下し、相対的虚血状態であることを見出した。この時、PHD2/HIF1 /VEGF 経路の

dysregulation による低酸素応答不良がみられ、遊離脂肪酸がこの dysregulation を引き起こすことがわかった。PHD2 に対する治療介入が肥満関連腎症における虚血を解除し、組織保護に働くことも明らかになった。これまでの研究結果を元に、「メタボリック腎症先制治療戦略」を確立することが今後の課題である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. Futatsugi K, Tokuyama H, Shibata S, Naitoh M, Kanda T, Minakuchi H, Yamaguchi S, Hayashi K, Minamishima YA, Yanagita M, Wakino S, Itoh H. Obesity-induced kidney injury is attenuated by amelioration of aberrant PHD2 activation in proximal tubules. *Sci Rep*. 2016 Nov 9;6:36533. doi: 10.1038/srep36533. 査読あり
2. Hasegawa K, Wakino S, Sakamaki Y, Muraoka H, Umino H, Minakuchi H, Yoshifuji A, Naitoh M, Shinozuka K, Futatsugi K, Urai H, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Communication from Tubular Epithelial Cells to Podocytes through Sirt1 and Nicotinic Acid Metabolism. *Curr Hypertens Rev. Curr Hypertens Rev*. 2016;12(2):95-104. 査読なし
3. Yoshifuji A, Wakino S, Irie J, Tajima T, Hasegawa K, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Gut Lactobacillus protects against the progression of renal damage by modulating the gut environment in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2016; 31(3):401-12. 査読あり
4. Minakuchi H, Wakino S, Hosoya K, Sueyasu K, Hasegawa K, Shinozuka K, Yoshifuji A, Futatsugi K, Komatsu M, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. The role

of adipose tissue asymmetric dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminohydrolyase pathway in adipose tissue phenotype and metabolic abnormalities in subtotaly nephrectomized rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2016; 31(3):413-23. 査読あり

5. Hosoya K, Minakuchi H, Wakino S, Fujimura K, Hasegawa K, Komatsu M, Yoshifuji A, Futatsugi K, Shinozuka K, Washida N, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H: Insulin resistance in chronic kidney disease is ameliorated by spironolactone in rats and humans. *Kidney Int*. 2015; 87: 749-60. 査読あり

[学会発表](計 9 件)

1. 内藤真規子、徳山博文、二木功治、脇野修、伊藤裕 . 肥満関連腎症の近位尿細管 Rho/Rho キナーゼ/p27 経路の果たす役割 . 第 59 回日本腎臓学会学術総会、2016, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市).
2. 二木功治、徳山博文、内藤真紀子、脇野修、林晃一、伊藤裕 . 非糖尿病・肥満関連腎症の病態生理- 相対的虚血による尿細管間質障害 . 第 19 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2015, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市).
3. 内藤真紀子、徳山博文、二木功治、脇野修、林晃一、伊藤裕 . 肥満関連腎症の病態生理の解明 . 第 19 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2015, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市).
4. 二木功治、徳山博文、内藤真規子、林晃一、脇野修、伊藤裕 . 非糖尿病・肥満関連腎症の病態生理 相対的虚血による尿細管間質障害 . 第 58 回日本腎臓学術総会、2015, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市).
5. 内藤真規子、徳山博文、二木功治、林晃一、脇野修、伊藤裕 . 肥満関連腎症にお

- ける近位尿細管 Rho/Rho キナーゼの役割 .
第 58 回日本腎臓学術総会, 2015, 名古屋
国際会議場 (愛知県名古屋市).
6. 内藤真規子、徳山博文、二木功治、林晃一、脇野修、伊藤裕 . 肥満関連腎症における近位尿細管 Rho/Rho キナーゼの役割 .
第 88 回日本内分泌学会学術総会, 2015,
ホテルニューオータニ(東京都千代田区).
7. Naitoh M, Tokuyama H, Futatsugi K, Wakino S, Itoh H: Activation of Rho/Rho-kinase pathway in proximal tubules as a culprit in Obesity-Related Nephropathy.
Presented at the 48nd American Society of Nephrology, 2015, San Diego.
8. Futatsugi K, Tokuyama H, Naitoh M, Wakino S, Itoh H: Involvement of ischemic condition in the pathophysiology of renal damages in obesity-induced kidney injury.
Presented at the 48nd American Society of Nephrology, 2015, San Diego.
9. 内藤真紀子、徳山博文、脇野修、林晃一、伊藤裕 . 肥満関連腎症 組織学的変化の新たな知見 .第 29 回日本糖尿病合併症学会, 2014, 都市センターホテル (東京都千代田区).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :

種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織
(1)研究代表者
徳山 博文 (Tokuyama Hirobumi)
慶應義塾大学・医学部・専任講師
研究者番号 : 50276250

(2)研究分担者
脇野 修 (Wakino Shu)
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号 : 50265823

林 晃一 (Hayashi Kouichi)
東京歯科大学・歯学部・教授
研究者番号 : 80164937

(3)連携研究者
()

研究者番号 :

(4)研究協力者
()